

Title	Analysis of hERG channel facilitation and pharmacophore modeling
Author(s)	山川, 祐子
Citation	大阪大学, 2012, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/59028">https://hdl.handle.net/11094/59028</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

【12】

氏名	山 川 祐 子
博士の専攻分野の名称	博士 (保健学)
学位記番号	第 25271 号
学位授与年月日	平成24年3月22日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科保健学専攻
学位論文名	Analysis of hERG channel facilitation and pharmacophore modeling (薬物による hERG チャンネルファシリテーション作用の解析とファーマコフォアモデル構築)
論文審査委員	(主査) 教授 大野ゆう子 (副査) 教授 倉智 嘉久 教授 大和谷 厚 教授 早川 和生

論文内容の要旨

【背景・目的】

hERGチャンネルは心筋細胞における活動電位の第3相を形成する電流を担う電位依存的カリウムチャンネルである。薬物によるhERGチャンネル活性の抑制は心筋細胞の活動電位に影響し、時として致死的な不整脈を誘発することもあり危険である。そのため、薬物のhERGチャンネルに対する作用が長年研究されてきた。一方、抗不整脈薬のニフェカランは、主にhERGチャンネル電流を抑制し、心筋細胞の活動電位の持続時間を延長して相対的不応期の延長を期待する治療薬である。近年このニフェカランがhERGチャンネル電流を抑制するだけでなく、脱分極（プレパルス）後のチャンネル活性を増強する（ファシリテーション）ことが報告された。薬物によるhERGチャンネルのファシリテーション作用は心筋細胞の活動電位へも影響する可能性が考えられるが、ファシリテーション作用のメカニズム、他の薬物のファシリテーション作用、またファシリテーション作用薬の構造的特性については十分に理解されていない。

そこで本研究では、ニフェカラン同様に臨床で使用されている抗不整脈薬を対象としてファシリテーション作用を解析し、メカニズムの理解を目指した。ついで、広くhERGチャンネル阻害作用が知られている薬物のファシリテーション作用を探索的に解析し、それら結果をもとにファシリテーション

作用薬の構造的特徴（ファーマコフォア）モデルの構築を行い、ファシリテーション作用薬の構造的特性の理解を目指した。

【方法】

薬物のhERGチャンネルへの作用は、アフリカツメガエルの卵母細胞にhERGチャンネルを異所性に発現させ、二極膜電位固定法を用いてチャンネル電流量の測定を行い評価した。また、Catalystプログラムを用いて薬物構造と活性の関係を解析し、ファシリテーション活性に関わる構造的特徴から構成されるファーマコフォアモデルの構築を行った。モデルの妥当性は、実測活性値とモデルによる予測活性値の相関により評価した。

【結果】

初めに、抗不整脈薬アミオダロンを用いてファシリテーション作用のメカニズムの解析を行った。アミオダロン存在下でプレパルスを与えると、その後の脱分極でチャンネル電流量が約2.5倍に増加した。Boltzmann関数を用いてチャンネル活性化の電位依存性を解析すると、一部のチャンネルでは電位依存性がコントロールと比較して過分極方向へ31 mV程度シフトしていることが分かった。この電位依存性の変化は各薬物濃度において同程度であり、薬物濃度非依存的であることが分かった。ついで、チャンネルの電位依存性を解析することで薬物によって阻害されたチャンネルの割合とファシリテーションされたチャンネルの割合を算出した。アミオダロンにおいては、阻害よりも薄い薬物濃度でファシリテーション作用が惹起されることが分かった。このことから、アミオダロンのチャンネルに対する親和性は、ファシリテーションと阻害作用で異なることが分かった。続いて他の抗不整脈薬についても解析を行った。カルベジロール、キネジンはニフェカランやアミオダロンほどではないがプレパルス後のチャンネル電流量を増加させること、またチャンネル活性化の電位依存性を過分極方向へそれぞれ12 mV（カルベジロール）、17 mV（キネジン）程度シフトさせることが分かった。一方、ドフェチリドは電位依存性をほとんど変化させないことが分かり、ファシリテーション作用には薬物選択性があることが分かった。さらに解析から、ファシリテーション作用は阻害されていないチャンネルに対して生じる作用であることが分かり、また薬物とチャンネルの相互作用は、阻害状態からファシリテーション状態へ直接遷移しないことが分かった。

ファシリテーション作用はニフェカラン以外の抗不整脈薬も有すること、また薬物によってプレパルス後の増加電流量やチャンネル活性化の電位依存性のシフトの程度に違いがあること、ファシリテーション作用を有する薬物の構造が多様であること等が明らかになった。そこで次に、広くhERGチャンネル阻害作用が知られている薬物を対象にファシリテーション作用の解析を行い、ファシリテーション作用薬のファーマコフォアモデルの構築を行った。その結果、抗精神病薬のハロペリドール、抗うつ薬のフルオキセチン、ノルトリプチリン、イミプラミン、抗ヒスタミン薬のプロメタジン、β受容体遮断薬のメトプロロール、プロプラノロール等の薬物もまた阻害作用に加えファシリテーション作用を併せ持つことが分かった。一方で、抗不整脈薬のソタロール、抗ヒスタミン薬のテルフェナジン、β受容体遮断薬のアテノロールなどの薬物はチャンネル活性化の電位依存性をほとんど変化させず、ファシリテーション作用が弱いことが分かった。これら薬物のファシリテーション活性値（EC<sub>50</sub>）をもとに、構造活性相関解析を行いファシリテーション活性に関わるファーマコフォアの抽出を行った。構築したファーマコ

フォアモデルはひとつの陽イオンチャージ領域と3つの疎水基から構成されていた。本モデルに薬物構造を適合させその適合具合から薬物の予測活性値を算出して実測活性値との相関を解析すると、相関係数0.80と高い相関関係が示された。本モデルは薬物のファシリテーション活性に関わる構造的特徴を抽出したモデルと考えられた。また、本研究で解析した薬物の多くはファシリテーションと阻害の両作用を有していたことから、ファシリテーションモデルと阻害モデルの比較を行った。その結果、同じ構造的特徴が抽出されていたが空間的配置が異なっていたことから、ファシリテーションと阻害作用は異なるメカニズムで惹起されていると予測された。

#### 【結論】

本研究から、ファシリテーション作用はチャンネル活性化の電位依存性が異なるチャンネルの出現によって観察されることが明らかになった。また、ファシリテーション作用は抗精神病薬、抗うつ薬、抗ヒスタミン薬、 $\beta$ 受容体遮断薬など、一部のhERGチャンネル阻害薬が有する作用であることが明らかになった。そして、ファシリテーション作用薬の構造的特性を示すモデルを構築し、ファシリテーションと阻害作用は異なるメカニズムであることを明らかにした。

本研究は、ファシリテーション作用のメカニズムの理解を進め、またファシリテーション作用薬の構造的基盤の理解を進めた。本研究成果は、薬物のhERGチャンネルに対する作用の解明と薬物誘発性不整脈の解明を進めるものと考えられる。

#### 論文審査の結果の要旨

薬物による脱分極後のhERGチャンネル活性増強（ファシリテーション）作用は、第III群抗不整脈薬ニフェカランが有するもう一つの作用として見つかったが、ファシリテーション作用のメカニズム及びファシリテーション作用を有する薬物の構造的特性については不明であった。本論文は、電気生理学的解析及び構造活性相関解析を用いて以下のことを明らかにした。

1) 本研究から抗精神病薬、抗うつ薬、抗ヒスタミン薬、 $\beta$ 受容体遮断薬もファシリテーション作用を有していることが分かり、ファシリテーション作用は一部のhERGチャンネル阻害薬が有する作用である。2) ファシリテーション作用のメカニズムとして、ファシリテーション時には電位依存性が異なるチャンネル群が新たに出現している。3) 電位依存性が異なるチャンネル群においては、V<sub>1/2</sub>が過分極方向に薬物濃度非依存的にシフトしており、シフトの程度は薬物固有である。4) 薬物毎に阻害とファシリテーションの親和性が異なる。5) ファシリテーション作用を有する薬物の活性に関わる構造的特徴として1つのpositively ionizable featureと3つのhydrophobic featuresが考えられた。

これら結果より、ファシリテーション作用は一部のhERGチャンネル阻害薬が有した作用であり、脱分極によって電位依存性が異なるチャンネル群の出現によって起きていることが明らかになった。また、ファシリテーション作用は阻害とは異なる薬物-チャンネルの相互作用様式で惹起されることが推測された。このように本論文は薬物のhERGチャンネルに対する作用について理解を進めるものと評価でき、本論文は博士（保健学）の学位授与に値するものと考えられる。